

<第28回山崎賞>

6 ミネラルウォーターの酸化と pH 変化

1 研究の目的

私たちは、原生生物や原核生物の光合成と呼吸の研究に、BTB 溶液を指示薬として使用してきた。その過程で使用したミネラルウォーター（以下 MW と記す）が、空気中の酸素に触れて青変する現象に出会った。光合成をすればはっきりと青くなり、私たちには好都合だが、その原因がわからず、ずっと不思議に思っていた。そこで、この原因を探ることを目的として研究を行った。

2 研究方法

(1) 先行研究

通常、BTB 溶液で光合成の有無を調べるには、何らかの薬品を加えて青色にして使用する。私たちの主な研究対象は、ミドリムシなどの原生動物であり、薬品や水道水は使えない。そこで、培養に用いている MW を BTB 溶液の変色実験にも使用してきた。この MW の pH は 7.0 付近で、BTB 溶液は緑色を示し、その成分は表 1 の通りである。また、その採水地は三重県尾鷲市付近である。

表 1 MW 中の成分 (mg/100ml)

Na	K	Ca	Mg
0.520	0.060	0.260	0.086

硬度 10mg/l (軟水)

光合成に関する研究で、試験管に栓をしないで実験を行うと、暗条件（呼吸のみ）においても、BTB が青変してしまった（図 1）。また、オオカナダモを明条件に置き、青変した試験管の pH は、8.9 を示した（図 2）。これらの結果から、BTB-MW 溶液は、空気中の酸素に触れることにより青変すると考えられた。そこで、市販の酸素ポンベを試験管内に通したところ、BTB は青変し、pH=7.7 を示した。

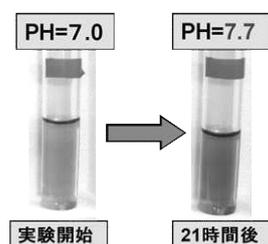


図 1 空気中での変色

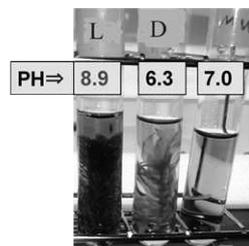


図 2 光合成による変色

(2) 仮説の設定

I MW 中の物質が空気中の酸素と反応し、塩基性を示す

II その物質は、MW 中に多く含まれ、酸化物が塩基性を示す Na か、Ca である

(3) 実験の計画

ア 仮説 I の検証実験

① 試験管で BTB 溶液の変色が、光の影響を受けるか確かめる。

② MW にオオカナダモを入れた試験管を明条件におき、フェノールフタレインが変色するか確かめる。

③ 体積の異なるビーカーを用いて条件を変え、BTB-MW 溶液の変色時間を比較する。

イ 仮説 II の検証実験

④ BTB-脱イオン水溶液に Ca や、Na の化合物を溶かし、溶液の変色を調べる。

⑤ 他の銘柄の MW について、酸素による変色が起こるかを調べる。

*なお、必要に応じて簡易 pH 計で pH を測定した。

3 実験の結果と考察

(1) BTB の変色における光の影響

MW を入れた試験管 4 本に BTB を加え緑色にした。2 本は光照射して明条件とし、2 本は暗い棚の中に置いて暗条件とした。それぞれ、シリコン栓をしたものとししないものを用意し、変色の様子を観察した。

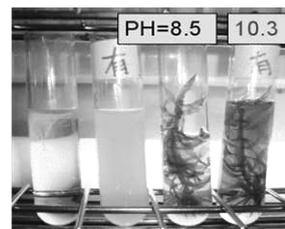
その結果、栓をしない試験管は 12 時間後には青色に変色していた。また、24 時間後に暗条件と明条件を比較したところ、両者は全く同じ色に変化していた。

この結果から、BTB-MW 溶液が変色する反応には、光は無関係であることがわかった。

(2) オオカナダモの光合成によるフェノールフタレインの変色

2 本の試験管にオオカナダモを入れ、1 本だけに栓をして明条件に 2 日間置いた。この試験管に、フェノールフタレインを添加したところ、栓がないものは薄いピンク色に、栓をしたものは赤色に変色した(図 3)。pH はそれぞれ、8.5、10.3 と非常に高い値を示した。

この結果、BTB-MW 溶液は、オオカナダモが光合成をして排出する酸素により、塩基性に変化することがわかった。空気中の酸素と反応する場合や、ポンベの酸素を通した場合と比べ、その変化の度合いはかなり大きい。



2 日後 Phn. 添加
図3 フェノールフタレインの変色

(3) ビーカーにおける BTB の変色

500ml 用、300ml 用、100ml 用の 3 種類のビーカーを用いて、以下の 4 つの条件で、BTB-MW 溶液の変色時間を比較した。観察には、デジタルカメラのインターバル撮影機能を利用した。

ア 3 種類のビーカーに、容量の半分の MW

まず、3 種類のビーカーに、それぞれ容量の半分の体積まで MW を入れて BTB を加え、変色に要する時間を調べた。また、同時に脱イオン水(以下 DW と記す)に BTB を加えたビーカーも用意した。その結果、容積の小さいビーカーから順に青色に変色した。

イ 3 種類のビーカーで同じ体積の MW

次に、3 種類のビーカーすべてに、100ml の MW を入れて BTB を加え、変色に要する時間を調べた。その結果、容積の大きいビーカーから順に青色に変色した。このことから、MW の体積が同じであれば、変色速度はビーカーの容積が大きいほど速いといえる。その理由は、大きいビーカーは空気との接触面積が大きいためと考えられる。

ウ 同じビーカーで異なる体積の MW

次に、300ml 用のビーカーに、200ml、150ml、75ml の MW を入れて BTB を加え、変色に要する時間を調べた。その結果、MW の体積が少ないビーカーから順に青色に変化した。このことから、空気との接触面積が同じであれば、変色速度は体積が少ないほど速いといえる。

エ 3 種類のビーカーで同じ深さの MW

これまでの実験の記録画像をながめていて、MW が同じ深さになるように調節したら 3 種類のビーカーが同じ時間に変色するのではないかと思いつき試してみた。

その結果は予想通りで、4 時間後にすべてのビーカーが同じ緑色になり、24 時間後には完全に青色に変化した(図 4)。このことから、変色速度は、溶液の深さに比例するといえる。これは、深いほど空気中の酸素との反応に時間がかかるためであり、MW 中の物質が酸素と反応するという私たちの仮説を支持するものである。

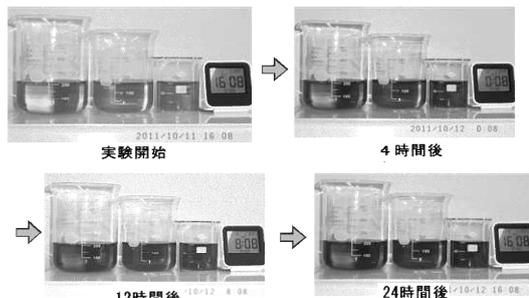


図4 同じ深さのBTB-MW溶液の変色

(4) Na 及び Ca の化合物を溶かした BTB-DW 溶液の変色

いろいろな化合物を DW に溶かし、BTB-DW 溶液が酸素と反応して黄色から青色に変化する現象が再現されるか試してみた。その結果は以下の通りである。

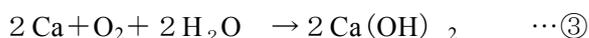
ア Ca 単体及び、CaO

BTB-DW 溶液 50ml に、Ca 単体、CaO をごく少量溶かしたところ、溶液はいずれも青色に変化し、pH はそれぞれ 11.8, 12.0 と強塩基性を示した。単体の場合、気体水素が激しく発生し、溶液中にはいずれも Ca(OH)₂ の白色沈殿を生じた。

これらの反応式は以下のように表される。



これと同じ反応が MW 中で起き、BTB-MW 溶液が青色に変化する可能性を考えた。そのとき考えられる反応式は以下の通りである。

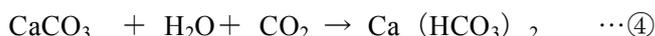


イ CaCl₂ 及び NaCl

まず最もありふれた塩化物を試した。アと同様、BTB-DW 溶液 50ml に、CaCl₂ 及び NaCl を溶かした。黄色の BTB-DW 溶液が緑色になるまで塩化物を加えた。この溶液を、空気中に放置したが、まったく変色しなかった。

ウ CaCO₃、Na(CO₃)₂、及び NaHCO₃

次に試したのが、地下水中にごく普通に含まれる CaCO₃ である。参考書に「過剰な二酸化炭素によって水に溶けて弱酸性を示す」とあり、その反応式は、次の様に示されていた。



つまり、BTB を加えて息を吹き込むと黄色に変化し、これがもとの青または緑色にもどるはずである。これを、Na(CO₃)₂ と NaHCO₃ でも試してみることにした。

CaCO₃、Na(CO₃)₂ 及び NaHCO₃ の各化合物に 2 つのビーカーを用意し、それぞれ DW50ml を入れ、1 つには BTB を加え、もう一つにはフェノールフタレインを加えた。これに各化合物をごく微量溶かした。その結果、BTB はいずれの水溶液も青色に変化し、フェノールフタレインは NaHCO₃ が薄い桃色に、他の 2 つは赤色に変化した。

変色したこれらの水溶液に、ストローで息を吹き込んだ。その結果、CaCO₃ は簡単に黄色、及び無色に変化した。Na 塩については、なかなか黄色に変色せず、フェノールフタレインは何とか無色になったものの、BTB は緑色にするのが精一杯であった。

これらの水溶液を空気中に放置し、変色の様子を観察した。その結果、期待通り元の色にもどった(図 5)。この反応は、あくまでも水溶液中の炭酸が空気中に二酸化炭素になってもどっていくことにより起こると考えられる。しかし、この反応も、BTB-MW 溶液の変色に関係している可能性は高い。

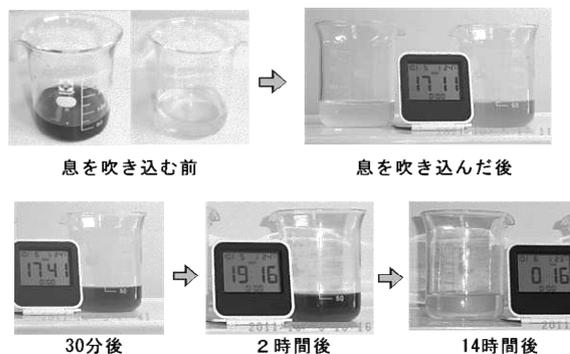


図5 CaCO₃水溶液の変色

(5) 他の銘柄の MW との比較

他の銘柄の MW でも BTB 溶液が青変するか確かめた。品質表示で中性と書かれた 3

表2 いろいろな銘柄のMW中の成分比較(mg/100ml)

成分	Na	K	Ca	Mg	pH	硬度	採水地
銘柄①	0.70	8.0	記載なし	8.0	7.2	304mg/l (硬水)	フランス
②	1.4	0.11	2.0	0.48	中性	70mg/l (記載なし)	谷川岳
③	0.52	0.060	0.26	0.086	記載なし	10mg/l (軟水)	尾鷲市
④	0.65	0.28	0.97	0.15	6.7	30mg/l (軟水)	南アルプス

* ③が常に使用しているMW。pHの記載はないが安定して7.0付近を示す。

種類の MW だけを選び(表 2)変色が起きるかを調べることにした。

ところが BTB を加えると①と②の MW は最初から青色を示した。塩基性と表示されている MW が多いことから、鉱物を含む MW は、もともと塩基性になりやすいものと思われる。いつも使用している③以外で緑色を示した④は、8 時間程度で青色に変化した(図 6)。このことから、酸素と反応する物質はそれほど特殊なものではなく、MW 中にごく普通に含まれていると推測される。

4 総合的考察

(1) 仮説 I 「MW 中の物質が空気中の酸素と反応し、塩基性を示す」について

MW が空気と接触することにより、BTB の変色が起こることは間違いない。しかし、酸素との反応によるものである確証は得られていない。

(2) 仮説 II 「酸素と反応する物質は、MW 中に含まれる Na か Ca である」について

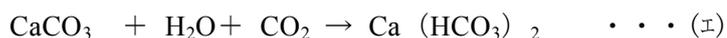
この仮説は、理論的に全く誤っていることがわかった。その理由は、以下の通りである。

Na や Ca は水溶液中ではイオンとして存在するが、気体酸素がイオンになることはほとんどない。酸化物イオンと反応したとしても、 Ca^{2+} の酸化数は $[\text{+2}]$ のまま変化しない。従って、酸素と反応する物質の候補としては、Fe、Mn や V など、酸化数が変化する元素があげられる。

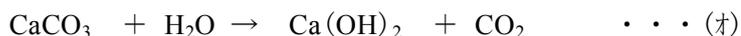
(3) 炭酸塩の存在による MW 中の炭酸の増減と、呼吸・光合成との関係

炭酸塩の実験結果から、呼吸及び光合成による MW 中の CO_2 量 (=炭酸量) の増減が、MW の pH 変化に関係している可能性が高い。特に CaCO_3 が、pH 変化に最も強く関係していると推測される。 CaCO_3 の存在下で、呼吸・光合成により MW の pH 変化が起こる理由を、以下のように考えてみた。

呼吸速度が上回っているときは、排出される CO_2 により、 CaCO_3 から炭酸水素カルシウムを生じ、pH は小さくなる。このときの反応式は(エ)で示される。



光合成速度が上まわっているときは、 CaCO_3 から CO_2 が奪われ水酸化カルシウムを生じ、pH は大きくなる。このときの反応式は(オ)で示される。



このように考えると、 CaCO_3 は、光合成に必要な CO_2 の供給源といえる。

(4) MW 中に含まれる Ca の由来

使用している MW 中に含まれる Ca は、採水地付近の石灰岩から供給される CaCO_3 に由来するのではないかと考えた。これを三重県の地質図で確認したところ、想像した通り、採水地の尾鷲市付近には石灰岩が広く分布していた。

(5) MW が塩基性を示しやすい理由

岩石中に含まれる Ca や Na などの元素が雨水と反応し、水酸化物が地下水 (=MW) にたまっていくだろうと想像される。つまり、地下水や湧水をくみ上げてボトルに詰めた MW は、もともと塩基性を示しやすいのではないだろうか。

(6) 新たな仮説の検討

実験結果の検討により、MW の pH 変化について、以下のような新たな仮説が浮上した。

I MW 中に含まれる Fe、Mn や V などが酸素と反応し、塩基性を示す。

II MW の pH は CaCO_3 の存在により、呼吸で酸性に、光合成で塩基性に変化する。

III オオカナダモの光合成により強塩基性を示すのは、I と II の相乗効果による。

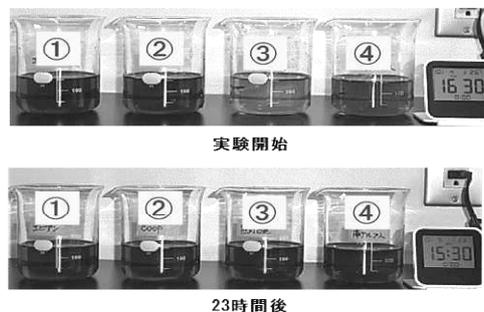


図6 いろいろなMWの変色

5 研究のまとめ

今回行ったいろいろな実験から、以下のようなことがわかった。

- ① 使用した MW は、空気中の気体と反応し、弱塩基性 (pH=7.8 程度) に変化する。
- ② その反応は、光の影響を受けない。
- ③ その変化速度は、MW の深さに比例する。
- ④ MW 内部にオオカナダモを入れ光合成させると、強い塩基性 (pH=10.0 程度) を示す。
- ⑤ MW の pH は、炭酸塩の存在により、呼吸で酸性に、光合成で塩基性に変化する。
- ⑥ pH 変化に関する炭酸塩は、主に CaCO_3 と考えられる。
- ⑦ この CaCO_3 は採水地の石灰岩に由来すると考えられる。
- ⑧ Na_2CO_3 及び NaHCO_3 については、MW の pH 変化にあまり関係しないと思われる。
- ⑨ Ca や Na は水と反応して水酸化物を生じる。このため、塩基性の MW が多い。

6 今後の課題

研究を継続するにあたり、今後の課題は以下の通りである。

- ① MW 中の Fe や Mn、V が酸素と反応し、塩基性を示すかどうかを確かめる。
- ② CaCO_3 を溶かした BTB-DW 溶液にオオカナダモを入れ、BTB-MW 溶液中と同様の反応が起きるか確かめる。
- ③ 外国産も含め酸性や中性を示す MW をもっと探し、今回の MW と比較する。
- ④ MW の製造法や地下水の成因について、文献等で詳しく調べる。

7 謝辞

本研究を進めるにあたり、以下の方々に大変お世話になった。ここに深くお礼申し上げる次第である。(敬称略)

三重県庁	環境森林部
本校理科教諭	高辻 倫江
本校生物部研究班新入部員	大塚 桃花

8 参考文献

1. 静岡農業高等学校生物部. いろいろな光合成微生物の見かけの光合成速度, 2009
2. 静岡農業高等学校生物部. いろいろな光合成生物の光合成と呼吸, 2010
3. フォトサイエンス化学図録 数研出版, 2009
4. 新版中学校理科 2分野上 大日本図書, 2007
5. チャート式シリーズ 中1理科 数研出版, 2002.
6. 最新理科便覧静岡県版 浜島書店, 2007